

Box-Behnken 响应面法优化超声提取皱皮木瓜总黄酮工艺

刘岩, 吕宗凯, 刘连芬, 钱关泽* (聊城大学生命科学学院, 山东聊城 252059)

摘要 以蔷薇科中的皱皮木瓜为研究对象, 以其叶片为试验材料, 分别进行料液比、提取时间、提取温度、乙醇浓度单因素试验探究总黄酮提取最适范围, 通过响应面法(RSM)和 Box-Behnken 试验设计结合二次回流优化超声辅助提取总黄酮工艺。结果表明, 不同因素对木瓜叶片总黄酮提取率的影响顺序为提取时间>乙醇浓度>料液比; 最佳工艺条件为提取时间 52 min、乙醇浓度 74%、料液比 1:41 (g:mL) 时, 总黄酮为 156.65 mg/g, 提取率达到 15.67%。

关键词 皱皮木瓜; 总黄酮; 响应面法; 提取工艺优化

中图分类号 R284.2 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2023)10-0144-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.10.032



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Optimization of Ultrasonic Extraction of Total Flavonoids from *Chaenomeles speciosa* by Box-Behnken Response Surface Methodology

LIU Yan, LÜ Zong-kai, LIU Lian-fen et al (School of Life Science, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252059)

Abstract Taking *Chaenomeles speciosa* in the Rosaceae as the research object and its leaves as the experimental material, the single factor experiments were conducted to explore the optimal range of total flavonoids extraction, including solid-liquid ratio, extraction time, extraction temperature and ethanol concentration. Response surface methodology (RSM) and Box-Behnken experimental design were combined with secondary reflux to optimize the ultrasonic assisted extraction process of total flavonoids. The results showed that the order of influence of different factors on the extraction rate of total flavonoids from papaya leaves was extraction time>ethanol concentration>solid-liquid ratio; the optimal process conditions were extraction time 52 minutes, ethanol concentration 74% and solid-liquid ratio 1:41 (g:mL), the total flavonoids were 156.65 mg/g, and the extraction rate reached 15.67%.

Key words *Chaenomeles speciosa*; Total flavonoids; Response surface methodology (RSM); Optimization of extraction process

皱皮木瓜(*Chaenomeles speciosa* (sweet) Nakai) 又称楸、贴梗木瓜、贴梗海棠、铁脚梨等, 是蔷薇科木瓜属植物, 在安徽、浙江、陕西、甘肃、广东、云贵川及缅甸等均有分布, 为常见的栽培及药用植物, 花色有乳白色、粉红色、大红色且有重瓣及半重瓣品种, 早春先花后叶^[1]。皱皮木瓜含有大量的有机酸、三萜类、黄酮类化合物、熊果酸、多糖及超氧化物歧化酶(SOD)等成分, 被称为“百益之果”, 是一种药食同源的植物^[2]。中医认为木瓜味酸性温, 入肝、脾经, 有健脾开胃、去湿舒筋之功效, 药理学上认为这些物质具有抗癌、抑制肿瘤、抗炎杀菌、抗氧化等功效^[3]。

目前对于皱皮木瓜的研究多集中在栽培技术^[4]和药用价值^[5]方面, 对其活性物质的研究包括对皂苷、熊果酸、齐墩果酸及有机酸等物质的提纯技术及功能效果方面^[6-7]; 仅少量学者报道了皱皮木瓜中黄酮类物质的提纯方法及总黄酮含量, 指出了由于皱皮木瓜分布区的差异, 其含有的总黄酮含量也不尽相同^[8-9], 对木瓜中黄酮类物质的提取工艺优化的研究还鲜见报道。黄酮类化合物的传统提取方法主要包括水提法、溶剂萃取法、树脂吸附法等, 近年来国内外新开发的提取方法有超声辅助提取法^[10]、超临界流体萃取法^[11]、微波萃取法^[12]、酶提取法^[13]等, 其中超声辅助提取法具有用时短、成本低、提取率高、无试剂残留污染环境等优点^[14], 它亦可结合其他提取方式共同使用, 是一种广泛应用的有极大发展前景的物质提取方式。为发掘皱皮木瓜叶片的潜在利用

价值, 减少枯枝败叶对环境造成的污染和压力, 该试验采用 Box-Behnken 响应面法研究料液比、乙醇浓度、提取温度、提取时间 4 个因素对总黄酮提取效果的影响, 优化超声冷回流法提取皱皮木瓜叶片中总黄酮的工艺参数, 以期对皱皮木瓜叶片的深度开发利用及其中活性物质的研究提供理论和技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试材。皱皮木瓜春季 4 月新鲜幼嫩叶片, 采自山东省聊城大学植物园, 挑选大小、幼嫩程度相似、无病虫害、完整新鲜的叶片。

1.1.2 试剂。亚硝酸钠、氢氧化钠、九水硝酸铝、芦丁标准品(纯度≥98%), 购自天津市大茂化学试剂厂; 无水乙醇购自国药集团化学试剂有限公司; 所有试剂均为分析纯(AR)。

1.1.3 仪器与设备。DGX-9053B-1 型电热鼓风干燥箱, 上海优浦科学仪器有限公司; 仙桃 xt-200 型高速多功能粉碎机, 浙江省永康市红太阳机电有限公司; FA1004 电子分析天平, 上海越平科学仪器有限公司; SB-4200 DTD 数控加热超声波清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; SHK-III 循环水式多用真空泵, 郑州科泰实验设备有限公司; UV 紫外可见分光光度计, 上海佑科仪器仪表有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 试验材料的处理。将采摘的新鲜皱皮木瓜叶片洗净晾干, 放于 70 °C 烘干箱中恒温烘干至恒重, 后用粉碎机粉碎、过筛得粉末, 储存于干燥袋中于 4 °C 冰箱密封保存备用。

1.2.2 芦丁标准曲线建立。根据卞京军等^[15]的方法稍作改良建立标准曲线。以芦丁作为标准品, 精确称取 1 g 样品, 60%乙醇 500 mL 溶解, 并用 60%乙醇定容至 1 000 mL, 得浓

基金项目 国家自然科学基金项目(31070619, 31170178); 山东省自然科学基金项目(ZR2011CM045)。

作者简介 刘岩(1998—), 女, 河北唐山人, 硕士研究生, 研究方向: 植物学。*通信作者, 教授, 博士, 硕士生导师, 从事种子植物分类及资源利用研究。

收稿日期 2022-07-06; **修回日期** 2022-07-18

度为 1 mg/mL 的芦丁标准溶液。取 6 支试管,分别加入 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 标准溶液,之后加入 60%乙醇至体积为 1 mL,先加入 10%亚硝酸钠溶液 0.5 mL,振荡摇匀并静置 5 min,之后加入 10%硝酸铝溶液 0.5 mL,振荡并摇匀,静置 5 min,最后加入 4%氢氧化钠溶液 4 mL,振荡并摇匀,静置 10 min,以第一管为空白对照,测定 510 nm 处的吸光度,以吸光度为纵坐标(y)、芦丁质量浓度为横坐标(x)建立芦丁标准曲线。

1.2.3 总黄酮提取及含量测定。准确称量木瓜粉末 1 g 于圆底烧瓶中,分别在不同料液比、乙醇浓度、提取时间、提取温度条件下,遵循单一变量原则进行超声冷回流提取。考虑到高温溶剂易挥发导致提取不充分等问题,该研究根据宋璇等^[16]的方法稍作改良,在第一次提取结束后,另加入同等体积乙醇进行二次回流提取,合并提取液,定容于 100 mL 容量瓶,后转移至 125 mL 棕色广口瓶保存。

采用硝酸铝比色法对总黄酮含量进行测定。取 200 μ L 样品至试管中,对照中加入同体积蒸馏水,各加入 800 μ L 对应体积的乙醇,加 10% NaNO_2 溶液 1 mL,振荡摇匀后反应 5 min;加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1 mL,振荡摇匀反应 5 min;加入 4% NaOH 溶液 5 mL,振荡摇匀反应 10 min,测 510 nm 处的 OD 值。参照芦丁标准品计算皱皮木瓜中总黄酮含量,求得总黄酮的提取率,计算公式如下:

$$E = \frac{C \times V \times n}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中, E 为总黄酮提取率(%); C 为含有的总黄酮质量浓度(g/mL); V 为加入的提取液体积(mL); n 为稀释倍数; m 为木瓜粉末的质量(g)。

1.2.4 单因素试验。

1.2.4.1 提取温度对总黄酮提取率的影响。精确称取皱皮木瓜叶片粉末 1 g,以料液比 1:50(g:mL)、乙醇浓度 60%、提取时间 40 min 条件下,提取温度分别为室温(30)、40、50、60、70 $^{\circ}\text{C}$ 进行回流提取,计算总黄酮提取率,重复 3 次。

1.2.4.2 提取时间对总黄酮提取率的影响。精确称取皱皮木瓜叶片粉末 1 g,以料液比 1:50、乙醇浓度 60%、提取温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,提取时间分别为 20、30、40、50、60 min 进行回流提取,计算总黄酮提取率,重复 3 次。

1.2.4.3 料液比对总黄酮提取率的影响。精确称取皱皮木瓜叶片粉末 1 g,以乙醇浓度 60%、提取时间 40 min、提取温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,料液比分别为 1:30、1:40、1:50、1:60、1:70 进行回流提取,计算总黄酮提取率,重复 3 次。

1.2.4.4 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响。精确称取皱皮木瓜叶片粉末 1 g,以料液比 1:50、提取时间 40 min、提取温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,乙醇浓度分别为 50%、60%、70%、80%、90% 进行回流提取,计算总黄酮提取率,重复 3 次。

1.2.5 响应面优化试验设计。根据单因素试验的结果,且由于试验材料采集时间原因,选取 3 因素 3 水平的响应面分析法对超声辅助提取工艺进行优化,以料液比、乙醇浓度、提取时间 3 个因素为自变量,以总黄酮提取率为响应值,将获得

数据导入软件 Design-Expert,以其中的 Box-Behnken 设计原理得到 17 组试验设计,分析多因素交互作用,优化提取条件,建立回归模型,最后确定最佳提取参数及验证试验分析。

2 结果与分析

2.1 建立芦丁标准曲线 以吸光度为纵坐标(y)、芦丁质量浓度(mg/mL)为横坐标(x)建立芦丁标准曲线(图 1),得出芦丁标准曲线的回归方程为 $y = 1.445x - 0.0176$ ($R^2 = 0.9999$),表明芦丁在 0~1.5 mg/mL 表现出良好的线性关系。

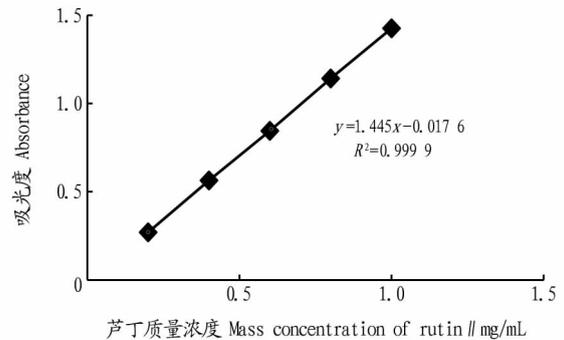


图 1 芦丁标准曲线

Fig.1 Rutin standard curve

2.2 单因素试验

2.2.1 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响。由图 2 可知,在提取温度、提取时间、料液比一定的条件下,乙醇浓度在 50%~70% 总黄酮提取率呈上升趋势,在乙醇浓度 70% 时提取率达到最大值(15.16%);乙醇浓度大于 70%,总黄酮提取率呈显著下降趋势,到 90% 时总黄酮提取率为 13.73%,同比最大值下降了 9.43%,说明皱皮木瓜总黄酮在 70% 乙醇中溶解度最大,由此选取 70% 为皱皮木瓜叶片总黄酮提取的乙醇浓度。

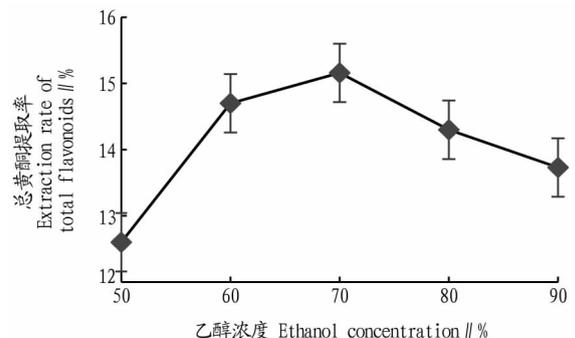


图 2 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响

Fig.2 Effect of ethanol concentration on the extraction rate of total flavonoids

2.2.2 料液比对总黄酮提取率的影响。由图 3 可知,在提取温度、提取时间、乙醇浓度一定的条件下,总黄酮提取率随着料液比减少呈先上升后下降的趋势,料液比 1:30 时总黄酮提取率为 13.02%,1:40 时总黄酮提取率为 14.29%,提取率增长了 9.75%,达到最大值;之后总黄酮提取率呈下降趋势。因此选择 1:40 为皱皮木瓜叶片总黄酮提取的料液比。

2.2.3 提取时间对总黄酮提取率的影响。由图 4 可知,在提取温度、乙醇浓度、料液比一定的条件下,提取时间在 20~

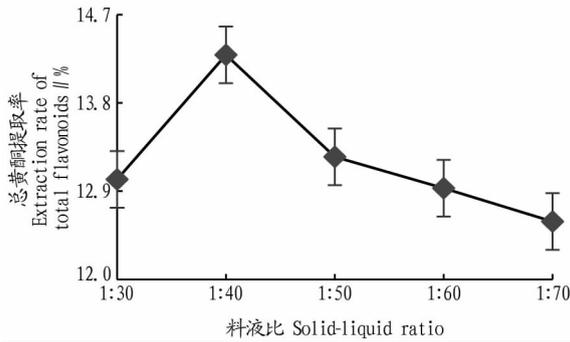


图3 料液比对总黄酮提取率的影响

Fig.3 Effect of solid-liquid ratio on the extraction rate of total flavonoids

50 min,总黄酮提取率先平缓后急剧增加,提取时间 50 min 时总黄酮提取率达到最高值,为 15.55%;随着提取时间延长,总黄酮提取率急剧下降,60 min 时,总黄酮提取率为 14.09%。结果表明随着提取时间的增加,总黄酮提取率提高,当时间超过一定限值后总黄酮提取率下降,在工业生产中延长提取时间会增加生产成本和消耗,为节约时间和经济成本,选择 50 min 为皱皮木瓜叶片总黄酮提取时间。

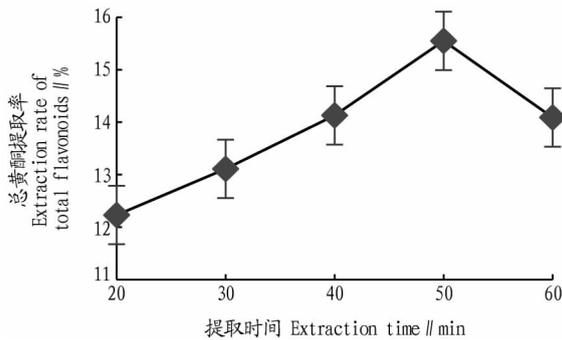


图4 提取时间对总黄酮提取率的影响

Fig.4 Effect of extraction time on the extraction rate of total flavonoids

2.2.4 提取温度对总黄酮提取率的影响。由图 5 可知,在乙醇浓度、提取时间、料液比一定的条件下,提取温度低于 40 ℃,随着提取温度的增加总黄酮提取率逐渐增加;提取温度 40 ℃时总黄酮提取率达到峰值,为 16.01%;高于 40 ℃后总黄酮提取率呈急速下降趋势。结果表明随着提取温度的增加,总黄酮提取率提高,而当温度超过一定限值后总黄酮提取率下降,可能是由于温度过高导致部分黄酮类化合物结构遭到破坏或是达到溶剂沸点后溶剂挥发损失,最终导致总黄酮提取率降低,因此选取 40 ℃为皱皮木瓜叶片总黄酮提取温度。

2.3 响应面实验 根据单因素试验结果,对影响皱皮木瓜叶片总黄酮提取率的不同因素(料液比、提取时间、乙醇浓度)进行 Box-Behnken 试验设计,表 1 为不同因素及水平组合条件下皱皮木瓜叶片总黄酮提取率,结果表明,提取时间 50 min、乙醇浓度 70%、料液比 1:40 时,皱皮木瓜叶片总黄酮提取率最高,为 15.77%。

以 Design Expert 8.05 软件对表 1 数据进行统计分析,建

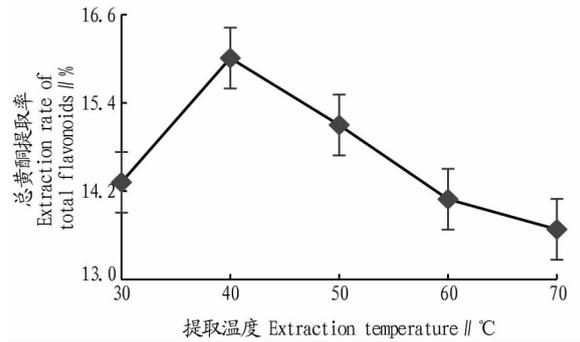


图5 提取温度对总黄酮提取率的影响

Fig.5 Effect of extraction temperature on the extraction rate of total flavonoids

立料液比(A)、提取时间(B)、乙醇浓度(C)3个因素与皱皮木瓜叶片总黄酮提取率(Y)的二次回归方程: $Y = 15.74 + 0.036A + 0.059B + 0.045C - 0.010AB + 0.018AC - 0.012BC - 0.220A^2 - 0.130B^2 - 0.060C^2$ ($R^2 = 0.9994$)。方差分析(表 2)显示,模型显著而失拟项不显著,说明试验误差小,具有统计学意义;决定系数(R^2)大于 0.9,说明模型具有较高的拟合度,可用于皱皮木瓜叶片总黄酮提取的条件优化。

表 1 响应面试验设计与结果

Table 1 Response surface test design and results

试验序号 Test No.	A(料液比 Solid-liquid ratio)	B(提取时间 Extraction time // min)	C(乙醇浓度 Ethanol concentration %)	总黄酮提取率 Extraction rate of total flavonoids // %
1	1:40	60	60	15.54
2	1:30	50	80	15.46
3	1:30	40	70	15.24
4	1:40	50	70	15.69
5	1:50	40	70	15.33
6	1:40	40	80	15.57
7	1:40	40	60	15.48
8	1:40	50	70	15.74
9	1:40	50	70	15.77
10	1:40	60	80	15.58
11	1:40	50	70	15.76
12	1:50	60	70	15.51
13	1:50	50	80	15.57
14	1:30	60	70	15.46
15	1:30	50	60	15.38
16	1:40	50	70	15.72
17	1:50	50	60	15.42

回归模型显著性检验结果(表 2)表明,模型中料液比(A)不显著($P > 0.05$),提取时间(B)、乙醇浓度(C)均显著($P < 0.05$),表明料液比对皱皮木瓜叶片总黄酮提取率的影响不显著,提取时间、乙醇浓度对提取率的影响显著; A^2 、 B^2 表现为极显著($P < 0.01$), C^2 表现为显著($P < 0.05$),说明乙醇浓度、料液比、提取时间对皱皮木瓜叶片总黄酮提取率的影响是较为复杂的二次关系,影响顺序为提取时间>乙醇浓度>料液比。

表 2 响应面回归模型方差分析

Table 2 Analysis of variance of response surface regression model

方差来源 Source of variation	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 值 F value	P 值 P value
模型 Model	0.37	9	0.041	15.23	0.000 8
A	0.011	1	0.011	3.87	0.089 7
B	0.028	1	0.028	10.18	0.015 3
C	0.016	1	0.016	5.97	0.044 5
AB	4.000E-004	1	4.000E-004	0.15	0.712 4
AC	1.225E-003	1	1.225E-003	0.45	0.523 2
BC	6.250E-004	1	6.250E-004	0.23	0.645 9
A ²	0.200	1	0.200	73.74	<0.000 1
B ²	0.074	1	0.074	27.45	0.001 2
C ²	0.015	1	0.015	5.68	0.048 7
残差 Residual	0.019	7	2.714E-003		
失拟项 Misfitting term	0.015	3	4.958E-003	4.81	0.081 5
纯误差 Pure error	4.120E-003	4	1.030E-003		
总误差 Total error	0.390	16			

2.4 响应面多因素交互作用分析 由图 6~8 可知,在料液比、提取时间、乙醇浓度两两因素一定的条件下,总黄酮提取率都随着第 3 个因素的增大而先上升后下降。料液比和提取时间的等高线形状偏圆形,说明两者交互作用较缓和;乙

醇浓度与料液比的等高线呈椭圆形,表明两者交互作用显著;乙醇浓度和提取时间的等高线呈椭圆形,表明两者交互作用显著。从响应面的 3D 图可知,料液比和提取时间、料液比和乙醇浓度、乙醇浓度和提取时间的曲线均较陡,说明两

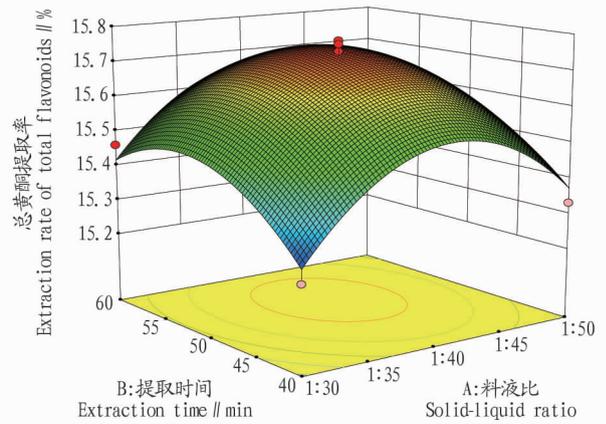
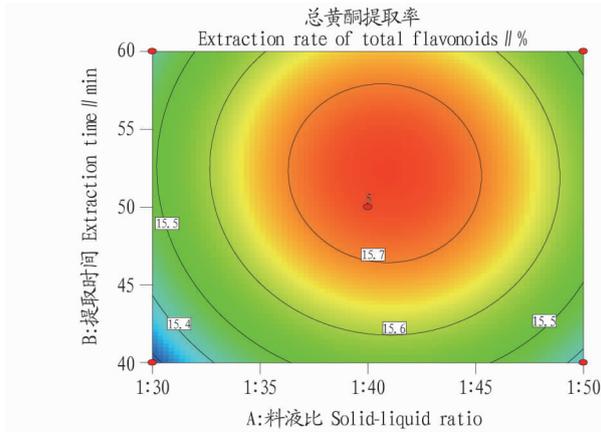


图 6 料液比与提取时间对木瓜叶片总黄酮提取率交互影响的等高线和响应面

Fig.6 Contour and response surface of the interaction between solid-liquid ratio and extraction time on the extraction rate of total flavonoids from papaya leaves

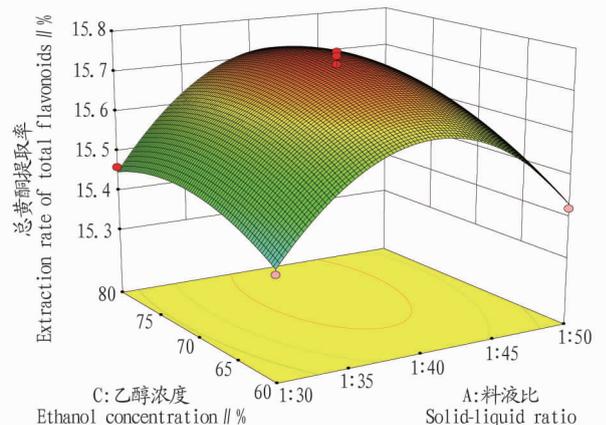
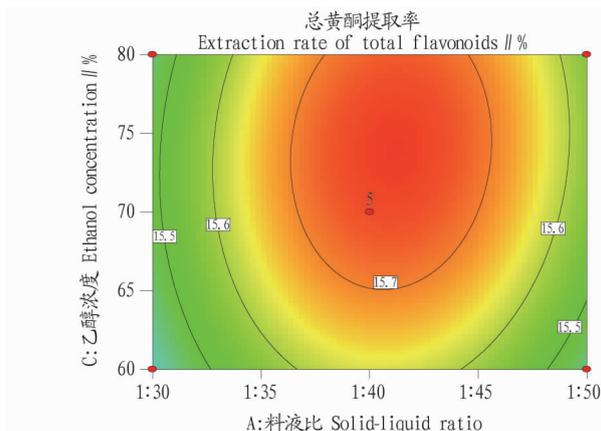


图 7 料液比与乙醇浓度对木瓜叶片总黄酮提取率交互影响的等高线和响应面

Fig.7 Contour and response surface of the interaction between solid-liquid ratio and ethanol concentration on the extraction rate of total flavonoids from papaya leaves

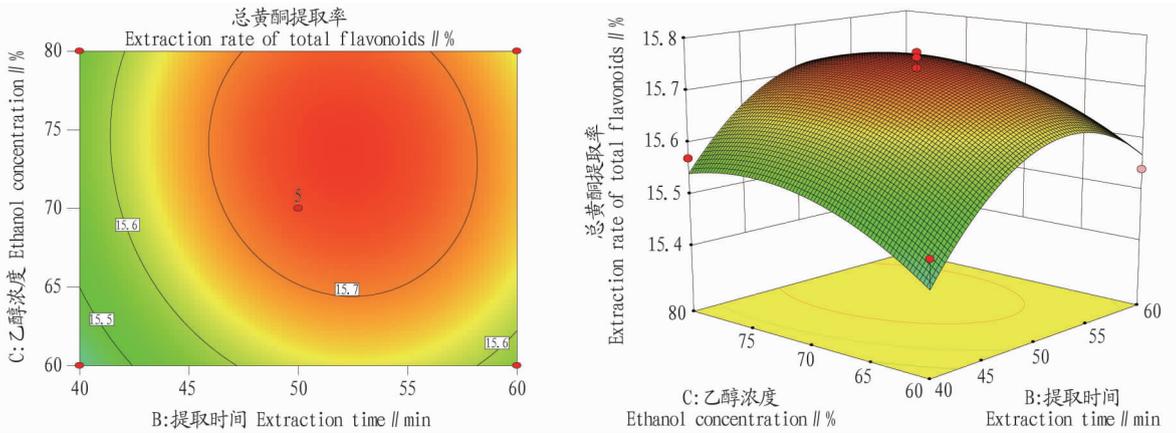


图8 乙醇浓度与提取时间对木瓜叶片总黄酮提取率交互影响的等高线和响应面

Fig.8 Contour and response surface of the interaction between ethanol concentration and extraction time on the extraction rate of total flavonoids from papaya leaves

者的交互作用对总黄酮提取率的影响较大。

2.5 总黄酮最佳提取参数的确定及验证性试验 经过分析回归方程,选择 Maximize 模式对总黄酮提取工艺进行参数优化,得到最优提取总黄酮的条件为提取时间 52 min、乙醇浓度 73.64%、料液比 1:40.94,此时,皱皮木瓜叶片总黄酮提取率的理论值为 15.75%。

为验证回归方程,以提取时间 52 min、乙醇浓度 74%、料液比 1:41 进行皱皮木瓜叶片总黄酮提取率验证试验,进行 3 组平行试验,回流提取 2 次,结果发现总黄酮提取率实际均值为 15.67%,RSD 小于 5%,与理论值基本一致,说明 Box-Behnken 响应面优化设计得到的各因素水平条件组合比较可靠,可以用于实际操作以及优化提取参数。

3 结论与讨论

前人研究报道,一般皱皮木瓜果实总黄酮含量在 6~40 mg/g^[17],皱皮木瓜皮渣总黄酮得率为 0.2%~0.5%^[15]。唐浩国^[18]研究表明,超声波具有空化作用,该作用可加速植物有效成分溶解出来,进而提高活性成分的提取率。该研究利用超声冷凝回流提取法提取皱皮木瓜叶片中总黄酮,结合二次回流提取并利用 Box-Behnken 响应面试验设计对提取条件进行优化,结果表明在提取时间 52 min、乙醇浓度 74%、料液比 1:41 条件下总黄酮得率最高,总黄酮提取率达到 15.67%,总黄酮含量为 156.65 mg/g,比文献报道的总黄酮得率显著提高^[19-22]。究其原因,或是由于采样时间处于春季,叶片较嫩,总黄酮含量更高,且一次提取后又加入溶剂进行了二次回流,补充了溶剂,保证总黄酮的大部分能够提取出来。由此可见,Box-Behnken 响应面法优化及二次回流的应用使得总黄酮提取率更高。该研究结果最大程度提高了皱皮木瓜叶片总黄酮得率,证明了以响应面法优化提取皱皮木瓜叶片总黄酮工艺的可行性,充分挖掘出木瓜的潜在利用价值,在控制成本、提高效率、保护环境、减少污染方面有着巨大的优势,从而实现了皱皮木瓜原料更为高效利用,为扩大皱皮木瓜工业生产及产品的开发利用提供了可靠依据。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志:第 36 卷[M].北京:科学出版社,1974:400-402.
- [2] 陈红,王关祥,郑林,等.木瓜属(贴梗海棠)品种分类的研究历史与现状[J].山东林业科技,2006,36(5):70-71,78.
- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编辑委员会.中华本草:第 4 卷[M].上海:上海科学技术出版社,1999:111.
- [4] 郭建全,刘春华,黄金铭,等.皱皮木瓜栽培技术要点[J].江西农业,2019(12):15.
- [5] 程翔.皱皮木瓜均一多糖的分离纯化、结构鉴定及抗肿瘤活性研究[D].上海:上海中医药大学,2019.
- [6] 刘世尧.不同产区皱皮木瓜有机酸组成及主要活性成分分离纯化研究[D].重庆:西南大学,2012.
- [7] 王志芳.皱皮木瓜中齐墩果酸和熊果酸测定、提取及抗肿瘤活性研究[D].武汉:华中农业大学,2006.
- [8] 王文平,蒋朝晖.木瓜中总黄酮的提取分离及含量测定[J].食品工业科技,2004,25(3):81-82.
- [9] 李娜,姜洪芳,金敬宏,等.不同采收期的宣木瓜总黄酮含量分析[J].食品研究与开发,2011,32(2):112-114.
- [10] 周胜男,褚翠翠,陆宁.食用仙人掌中黄酮类物质的提取研究[J].食品工业科技,2008,29(2):228-230.
- [11] DUGO P, MONDELLO L, DUGO G, et al. Rapid analysis of polymethoxylated flavones from citrus oils by supercritical fluid chromatography[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 1996, 44(12):3900-3905.
- [12] 孙萍,李艳,成玉怀.甘草总黄酮的微波提取及含量测定[J].时珍国医国药,2003,14(5):266-267.
- [13] WU M L, ZHOU C S, CHEN L S, et al. Study on the extraction of total flavonoids from Gingoleaves by enzyme hydrolysis[J]. Natural product research and development, 2004, 16(6):557-560.
- [14] 代彩玲,王萍,王静,等.籽瓜瓜皮果胶提取方法的优化与评价[J].中国瓜菜,2018,31(10):13-18.
- [15] 卞京军,程密密,刘世尧,等.皱皮木瓜皮渣齐墩果酸、熊果酸和总黄酮连续提取工艺研究[J].西南大学学报(自然科学版),2015,37(3):158-165.
- [16] 宋璇,王汝华,于建丽,等.山楂叶黄酮分离纯化及抗氧化活性[J].食品研究与开发,2022,43(4):57-63.
- [17] 郑璇,申国明,高林,等.不同产区皱皮木瓜总黄酮含量与土壤主要化学指标的关系[J].江苏农业科学,2018,46(17):202-205.
- [18] 唐浩国.黄酮类化合物研究[M].北京:科学出版社,2009:64-65.
- [19] 王有为,何敬胜,范建伟,等.木瓜道地起源与道地产区形成研究[C]//中国中西医结合学会中药专业委员会.2009年全国中药学术研讨会论文集.北京:中国中西医结合学会,2009:163-168.
- [20] 郭锡勇,唐修静,郭莉莉.木瓜不同炮制品中总黄酮含量测定[J].贵阳中医学院学报,2000,22(4):61-62.
- [21] 陈翠,熊德琴,李春晖.木瓜中总黄酮提取最佳工艺的研究[J].广东石油化工学院学报,2012,22(1):15-17,25.
- [22] 严睿文,丁毅.宣木瓜中黄酮的提取分离及含量的测定[J].生物学报,2008,25(3):62-64.